UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1951-1952 — N° 363

ESSAI D'APPLICATION DU CUPFERRON A LA DIAGNOSE TOXICOLOGIQUE DES CATIONS MINÉRAUX

(Travail du Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène appliquée de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux)

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

Présentée et soutenue publiquement le Samedi 10 Mai 1952

PAR

Jean-Georges-Louis-François PABIA

PHARMACIEN

Né à Bordeaux, le 18 Juillet 1925

Examinateurs de la Thèse :

MM. CASTAGNOU, professeur ..... *Président*

MESNARD, professeur .....

CAZAUX, maître de conférences agrégé ..... *Juges*

GOLSE (René), maître de conférences agrégé .

BORDEAUX

IMPRIMERIE E. DROUILLARD

3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

—

1952

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1951-1952 — N° 363

ESSAI D'APPLICATION DU CUPFERRON A LA DIAGNOSE TOXICOLOGIQUE DES CATIONS MINÉRAUX

(Travail du Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène appliquée de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux)

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

Présentée et soutenue publiquement le Samedi 10 Mai 1952

PAR

Jean-Georges-Louis-François PABIA

PHARMACIEN

Né à Bordeaux, le 18 Juillet 1925

Examinateurs de la Thèse :

MM. CASTAGNOU, professeur ..... *Président*

MESNARD, professeur .....

CAZAUX, maître de conférences agrégé ..... *Juges*

GOLSE (René), maître de conférences agrégé .

BORDEAUX

IMPRIMERIE E. DROUILLARD

3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

—

1952

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPÉRIÉ, CHELLE.
DOYEN : M. PORTMANN. — **ASSESSEUR** : M. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, GUYOT, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, LABAT, CHARRIER, DUBREUIL, MACHEBŒUF, CRUCHET.

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	N... / CREYX
Clinique chirurgicale	PAPIN / MASSÉ
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE
Clinique gynécologique	MAGENDIE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY
Anatomie	N...
Anatomie générale et histologie	MAYER
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIÉCHAUD
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLÉE
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	REBOUL
Chimie	N...
Matière médicale	GOLSE
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN
Zoologie et parasitologie	SIGALAS

	MM.
Médecine expérimentale	AUBERTIN
Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	N...
Clinique des maladies infectieuses	N...
Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Botanique et cryptogamie	GIRARD
Thérapeutique	BROUSTET

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL : M. MESNARD (Pharmacie).

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. PERRENS (Maladies mentales), DUFOUR (Anatomie), BLANQUET (Physique pharmaceutique).

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.
Parasitologie	PAUTRIZEL
Physiologie	Mlle ROUGIER
Bactériologie	MOUSTARDIER

	MM.
Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE
Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER
Pharmacie (3e Section)	CAZAUX

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Médecine générale	SARIC / DUBARRY / F.-J. TRAISSAC / BERGOUIGNAN / LENG-LÉVY / POUYANNE
Chirurgie générale	LAUMONIER / CHAVANNAZ
Obstétrique	MAHON / CHASTRUSSE

	MM.
Ophtalmologie	BESSIÈRE
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Pédiatrie et puériculture	VERGER
Médecine légale et médecine du travail	L'ÉPÉE
Electro-radiologie	LACHAPÈLE
Odonto-stomatologie	MARONNEAUD
Urologie	LANGE

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	DUFOUR
Accouchements	CHASTRUSSE
Puériculture	VERGER / PÉRY
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI / COUSTOU
Anatomie	RIGAUD
Chimie minérale	BABIN
Cryptogamie	LAUBIE

	MM.
Pharmacie galénique	MESNARD
Organographie et physiologie végétale	TEMPÈRE
Chimie biologique	NEUZIL
Chimie analytique	QUILICHINI
Pathologie chirurgicale	LAUMONIER / VILLAR
Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Hydrologie pharmaceutique	CAZAUX

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MES GRANDS-PARENTS

A MES PARENTS

A MON FRÈRE

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MES CAMARADES DU LABORATOIRE

A MONSIEUR RENÉ GOLSE

MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ

DOCTEUR ÈS SCIENCES

PHARMACIEN DES HÔPITAUX

En hommage de respectueuse sympathie.

A MONSIEUR J. MASQUELIER

MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ

DOCTEUR ÈS SCIENCES

Avec l'assurance de notre respect.

A MONSIEUR PIERRE CAZAUX

MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ

DOCTEUR ÈS SCIENCES

CROIX DE GUERRE

OFFICIER D'ACADÉMIE

C'est avec l'estime et la sympathie dont vous entourez depuis toujours ma famille, que vous m'avez guidé vers le Laboratoire de Toxicologie et conseillé au cours de mes études et de ce travail.

Qu'il me soit permis, en y joignant les remerciements de tous les miens, de vous dire ma profonde et respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PIERRE MESNARD

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE MÉDECINE

ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOCTEUR ÈS SCIENCES

INSPECTEUR PRINCIPAL DES PHARMACIES

OFFICIER D'ACADÉMIE

En témoignage de reconnaissance.

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. CASTAGNOU

PROFESSEUR DE TOXICOLOGIE ET HYGIÈNE APPLIQUÉE

PHARMACIEN DES HÔPITAUX PSYCHIATRIQUES

Du jour où vous m'avez accueilli dans votre laboratoire, vous avez été pour moi un guide et un soutien moral, ne ménageant ni votre temps, ni vos encouragements aux moments délicats de mes études.

Permettez à celui qui vous doit la plus grande partie de sa formation, de vous offrir ce travail, que vous avez inspiré et guidé, en témoignage et en gage de respectueux et profond attachement.

ESSAI D'APPLICATION DU CUPFERRON A LA DIAGNOSE TOXICOLOGIQUE DES CATIONS MINÉRAUX

INTRODUCTION

Le cupferron étant un réactif organique très utilisé dans les recherches minéralogiques du fait de son pouvoir insolubilisant vis-à-vis d'un grand nombre de dérivés métalliques, nous avons voulu essayer de mettre en évidence ses possibilités réactionnelles dans le cadre d'un liquide de destruction toxicologique.

Le cupferron est-il susceptible de permettre l'identification d'un ou plusieurs cations ? Est-il capable, en raison de son extrême affinité pour l'ion ferrique, de provoquer la déferrisation d'un liquide de destruction et d'enlever ainsi un des éléments les plus gênants de la recherche toxicologique ? Les résultats obtenus dans nos recherches font l'objet du présent travail.

Après un rappel volontairement très succinct sur le cupferron, nous indiquerons, dans un premier chapitre, son action précipitante sur les cations usuels ou toxiques les plus courants. Dans un deuxième chapitre, nous étudierons l'influence de l'acidité sulfurique sur cette précipitation, en nous plaçant dans des conditions comparables à celles réalisées dans un liquide de destruction nitro-sulfurique. Enfin, un troisième chapitre comprendra les observations qui découlent des résultats obtenus dans les deux précédents.

CHAPITRE PREMIER

LE CUPFERRON

Découvert en 1894, simultanément par Wohl et Bamberger [1], le sel d'ammonium de la β nitrosophénylhydroxylamine fut proposé dès 1909, par Baudisch [2], pour le dosage et la séparation du fer et du cuivre; cette dernière ne fut réalisée en fait que par Biltz et Hödtke [3], en 1920. Elle avait cependant valu au composé la dénomination de *Cupferron* qui lui est demeurée.

Sa formule est la suivante : $C_6H_5N\begin{matrix} N = O \\ O - NH_4 \end{matrix}$

SYNTHÈSES

Le produit a été préparé par synthèse, suivant deux méthodes différentes :

1° Par action du nitrite d'amyle sur le dérivé ammoniacal de la β phénylhydroxylamine, obtenue par réduction modérée du nitrobenzène [4];

2° Par nitrosation et transformation en sel d'ammonium de la phénylhydroxylamine préparée par réductions successives du nitrobenzène en aniline, au moyen de l'hydrogène naissant, puis de cette dernière à l'aide du sulfure d'ammonium en milieu alcoolique [5 et 6].

PRÉPARATION

Un procédé pratique de préparation a été rapporté par E. Cattelain [4]. Il est une application de la première méthode de synthèse et repose sur les réactions suivantes :

1° $C_6H_5NO_2 + 2\,H_2$..... $C_6H_5NHOH + H_2O$
(nitrobenzène) (phénylhydroxylamine)

2° $C_6H_5NHOH + NH_3$..... $C_6H_5N(H)-O-NH_4$
(sel d'ammonium de la β phénylhydroxylamine)

3° $C_6H_5N(H)-O-NH_4 + NO_2H$. $C_6H_5N(N=O)-O-NH_4$
(cupferron)

La technique détaillée en a été décrite par Guilhem-Ducléon [7], dans sa thèse.

PROPRIÉTÉS

Le produit se présente sous forme de paillettes blanches et brillantes souvent agglomérées. Il a un poids moléculaire de 155 et fond à 164°.

Très instable, il se décompose facilement et rapidement sous l'action de l'air et du vieillissement. Aussi, dès sa préparation, doit-on le conserver à l'abri de l'air, en présence de carbonate d'ammonium. Il se forme, avec le temps, des produits secondaires (ammoniaque, nitrosobenzène, nitrobenzène, acide nitreux) qui communiquent au composé un aspect jaune sale.

Très soluble dans l'eau et dans l'alcool, il donne des solutions troubles, légèrement jaunes, dont la conservation ne dépasse pas quarante-huit heures. Il est également soluble dans les solvants organiques et peut être extrait, après acidification de ses solutés aqueux et alcooliques, par l'éther, l'acétate d'éthyle et le chloroforme.

En raison de sa composition chimique, il est détruit ou décomposé par de nombreux agents physiques et chimiques.

Parmi les premiers, on doit ranger *la chaleur,* qui le détruit très promptement : en solution, le cupferron redonne, à chaud, les produits initiaux de sa préparation.

Parmi les agents chimiques, nous signalerons l'action des *acides forts,* celle des *bases* et celle des *oxydants* et *réducteurs.*

a) *Acides.* — En présence d'acide chlorhydrique, sulfurique ou azotique, la molécule du cupferron est détruite : l'addition d'une faible quantité d'acide à une solution du produit amène la précipitation immédiate de phénylhydroxylamine; puis, si les affusions acides continuent, la liqueur devient verte, puis jaune sale. L'analyse d'une solution de cupferron à 2 p. 1.000, acidifiée à 20 p. 100 par l'acide sulfurique, démontre la formation de produits nitrés et nitrosés.

b) *Bases.* — *La soude* produit sensiblement les mêmes effets que les acides, mais son action est moins brutale : l'apparition de phénylhydroxylamine est plus lente, et la destruction complète du produit demande des quantités importantes d'alcali; la solution finale est colorée en brun foncé.

L'ammoniaque, par contre, ne détruit pas le cupferron, et on a pu obtenir, en sa présence, diverses combinaisons métalliques.

c) *Oxydants et réducteurs.* — Ils sont incompatibles avec le cupferron qu'ils détruisent.

EMPLOI

Le cupferron a été abondamment utilisé dans l'étude de la précipitation des métaux. Cependant, son usage a été surtout envisagé pour purifier certains d'entre eux, pour précipiter les éléments rares qui accompagnent leurs minerais. Son emploi a donc été surtout métallurgique.

Il faut signaler les travaux sur la séparation fer-titane-aluminium [8], titane et zirconium [9], sur le titane de Thornton [10], sur l'uranium d'Auger [11] et de Rab-

BITS [12]. L'action de ce composé a encore été étudiée sur le cuivre [13], l'aluminium [14], le bismuth [15], l'étain [16], le vanadium [17], le cœsium.

De l'ensemble de ces travaux, il ressort que :

— *en milieu neutre,* le cupferron précipite tous les métaux, à l'exception des alcalins;

— *en milieu acide,* l'action précipitante est plus sélective, mais elle n'est pas quantitative.

Pour les séparations, on opère en milieu *acide fort* dilué. Les composés obtenus sont moins solubles que les hydroxydes; de plus, ils précipitent en milieu d'une acidité plus élevée que ces derniers.

La solubilité de ces combinaisons a fait l'objet de nombreux travaux [18]; pour chacune d'elles a été déterminé le solvant de choix; on a pu ainsi obtenir différents liquides de séparation correspondant chacun à un petit nombre ou encore à un seul élément à rechercher et à doser. Il est, par suite, naturel de songer à l'utilisation de cet ensemble de techniques pour la recherche toxicologique d'ions métalliques dans les milieux de destruction habituels.

Essai de dosage manganimétrique du cupferron

La détermination quantitative du cupferron fixé par un ion métallique dans une combinaison insoluble facile à isoler aurait été de nature à faciliter nos recherches personnelles. Aussi, en l'absence de données certaines à ce sujet, et en raison de la grande oxydabilité de ce produit, nous avons tenté un essai de dosage à l'aide du permanganate de potassium. Nous en exposerons succinctement les résultats :

a) *La méthode directe* n'est pas à conseiller : l'addition d'acide sulfurique à la solution de cupferron décompose immédiatement ce dernier; il se forme un précipité blanc de nitrosophénylhydroxylamine que le permanganate détruit progressivement et solubilise. La fin de la réaction est difficile à voir.

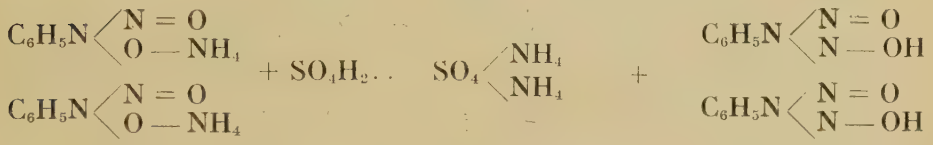
En outre, le volume de solution de permanganate utilisé est fonction de la rapidité du dosage et du vieillissement de la liqueur étudiée.

b) *La méthode par reste,* par dosage classique d'un excès de permanganate au moyen d'un sel ferreux, donne des résultats plus constants. Ils sont toutefois variables et, surtout, fonction du vieillissement de la solution de cupferron et de l'échantillon mis en œuvre.

L'équivalent réactionnel trouvé oscille, selon les essais, de 5 à 5,5. Il augmente avec le temps, dès la dixième minute après la dissolution du produit. A chaud, les différences sont encore plus sensibles.

On ne peut donc effectuer, par manganimétrie, un dosage même approximatif du cupferron. La raison en est la suivante :

En milieu acide et en présence d'un oxydant, le cupferron se décompose en une cascade de composés de plus en plus oxydés, comme le montre le schéma suivant :



cupferron + acide... ammoniac ou sel d'ammonium + nitroso-phénylhydroxylamine (précipité blanc)

nitroso-phénylhydroxylamine + oxydant..... nitrobenzène + acide nitreux

acide nitreux + oxydant..... acide nitrique

Il nous a été facile de mettre en évidence, au moyen de leurs réactions spécifiques, l'ammoniaque, les nitrites et les nitrates ainsi formés; quant au nitrobenzène, sa seule odeur permet de le caractériser.

CHAPITRE II

ÉTUDE DE LA PRÉCIPITATION DES IONS MÉTALLIQUES EN MILIEU AQUEUX ET NEUTRE

Pinkus et Martin [19], dans leurs travaux sur l'emploi du cupferron en gravimétrie, ont opéré sur des solutions de concentration monomoléculaire par litre; la solubilité du précipité métal-cupferron recueilli et lavé était établie par saturation du solvant choisi (eau distillée, acide, base, etc.) et dosage du métal dans la liqueur obtenue après destruction de la combinaison organique.

Ce *modus faciendi* ne peut être couramment utilisé pour des recherches toxicologiques. Nous avons adopté, par suite, un protocole expérimental absolument différent.

Solutions métalliques. — Toutes nos solutions métalliques de base ont été titrées à 1 g. de métal par litre et effectuées autant que possible à l'aide de sels neutres.

Par dilutions successives, nous avons obtenu des solutions à 500, 250, 100, 50, 25, 10 et 5 microgrammes par millilitre.

Réactif au cupferron

D'essais préliminaires, il ressort que les meilleurs résultats s'obtiennent avec une solution de cupferron titrée environ à 6 p. 100.

Outre ce réactif, nous avons utilisé celui de Baudisch [20] dosé exactement à 5 p. 100.

La dissolution du produit s'effectue à froid, et la liqueur doit être filtrée sur filtre sans cendre. Le délai maximum de

conservation ne dépasse pas quarante-huit heures, même en récipient jaune bien fermé; aussi, est-il préférable de préparer le réactif au moment de l'emploi.

Protocole expérimental

Nous avons utilisé la *méthode de floculation limite* déjà décrite par Zizine [21] pour d'autres recherches.

On opère sur 10 ml. des solutions métalliques indiquées. Pour certains ions, il est necessaire d'effectuer également l'essai sur des dilutions à 2 et 1 microgramme par millilitre. Lorsque la limite de précipitation est comprise entre deux ordres des grandeurs indiquées, on recherche la sensibilité exacte du réactif sur des dilutions intermédiaires.

On ajoute 1 ml. du réactif au cupferron. Etablie par tâtonnement, cette quantité s'avère apporter un excès de produit qu'il est facile de vérifier par addition au filtrat d'une goutte d'une solution de Fe^{+++}.

Le réactif doit être versé lentement dans la solution métallique; la gamme obtenue est placée à l'obscurité, loin de toute source de chaleur. Elle est examinée immédiatement, puis au bout de deux heures, quatre heures, douze heures et, enfin, vingt-quatre heures de contact, par comparaison avec un tube témoin qui a reçu 10 ml. d'eau distillée et 1 ml. de réactif.

Les précipités se rassemblent assez rapidement; ils forment, au fond des tubes, un culot amorphe ou cristallisé suivant le cas. A partir d'une concentration en ion métallique, spécifique pour chaque métal, il n'y a plus précipitation : on observe seulement une gamme d'opacités décroissantes jusqu'à disparition de tout phénomène visible. On peut ainsi évaluer la limite de *floculation perceptible à l'œil* pour chacun des ions étudiés.

Notons qu'il est important d'opérer avec un matériel très propre : tubes à essai, pipettes, burettes doivent être lavés à l'eau chlorhydrique, puis rincés au moins trois fois à l'eau distillée.

Contrôle de la précipitation

On pouvait se demander si le précipité ainsi obtenu correspondait bien à l'ion considéré, et si la précipitation était totale ou non.

Pour effectuer ce contrôle qualitatif et quantitatif, nous avons opéré sur les solutions à 500, 250, 100, 10 et 5 microgrammes par millilitre.

Il convenait, en premier lieu, de séparer le précipité de la liqueur où il avait pris naissance. La décantation spontanée est trop longue; elle devait, par ailleurs, s'avérer très défectueuse en milieu acide. Restait la filtration sur verre fritté ou sur filtres sans cendre. Nous avons opté pour ces derniers : le liquide a été passé sur un double filtre, jusqu'à l'obtention d'une liqueur limpide, ce qui aboutit à la séparation aussi rigoureuse que possible des deux phases.

Nos vérifications ont porté à la fois sur les précipités et sur les liqueurs surnageantes. Elles se sont effectuées à l'aide de deux méthodes :

– *l'une pondérale,* pour les ions faciles à précipiter par l'acide sulfurique, sous forme de sulfates insolubles dosables par pesée;

l'autre chimique, au moyen d'une réaction spécifique et sensible de l'ion considéré, par comparaison avec une gamme étalon.

a) *Précipités.* — Il faut tout d'abord détruire la combinaison cupferron-métal en laissant subsister ce dernier dans son intégrité. La chaleur ne donne pas d'excellents résultats; l'action des acides est incommode pour la suite des opérations; celle des oxydants est variable : *le permanganate de potassium* n'agit de façon satisfaisante et constante que sur de faibles quantités de cupferron; il ne peut être appliqué avec profit à la destruction de la combinaison cupferron-métal dans laquelle entrent toujours en jeu des proportions très importantes du réactif organique.

En dernière analyse, après une série d'essais, nous avons

combiné *l'action de la chaleur et de l'eau bromée saturée.* On opère comme suit :

Le précipité est entraîné par 10 ml. d'eau distillée dans un bécher contenant quelques billes de verre, puis les deux filtres sont joints au mélange. On chauffe en ajoutant, à deux reprises, 5 ml. d'eau bromée; on maintient l'ébullition jusqu'à ce que la liqueur prenne une teinte jaune paille et que le volume total soit réduit à 2 ou 3 ml. On filtre rapidement, à chaud, et on exprime les résidus des papiers filtres. On lave à l'eau distillée, jusqu'à l'obtention d'un filtre de 10 ml.

1° *Cations à sulfates insolubles.* — Dans la liqueur filtrée, l'ion considéré peut être identifié par une de ses réactions spécifiques et sensibles; il peut être dosé par addition de 2 à 3 ml. d'acide sulfurique au 1/20e; le précipité de sulfate est recueilli, lavé, séché et pesé.

2° *Cations à sulfates solubles.* — Ils seront d'abord extraits de la liqueur filtrée, sous forme de sulfures, au moyen de l'acide thioacétique agissant, selon le cas, en milieu acide ou alcalin.

A cet effet, les 10 ml. de filtrat sont acidifiés par quelques gouttes d'acide chlorhydrique ou d'acide acétique, ou bien alcalinisés par quelques gouttes de lessive de soude. Après addition d'un excès d'acide thioacétique, ils sont maintenus trente minutes au bain-marie bouillant. L'examen de la couleur des sulfures permet leur identification.

Après décantation, les sulfures sont ionisés. Sur la liqueur obtenue, on opère une réaction spécifique de l'ion considéré et on pratique le dosage par comparaison avec une gamme étalon.

b) *Liquides surnageants.* — Le procédé de destruction du cupferron est celui décrit ci-dessus; on utilise seulement 5 ml. d'eau bromée pour l'oxydation du produit. Le volume terminal de la liqueur, pour la précipitation des sulfates ou des sulfures, sera de 5 ml., afin de concentrer les traces d'éléments à rechercher ou à doser.

L'ensemble des résultats ainsi obtenus permettra d'indiquer :

— la sensibilité de chaque métal vis-à-vis du réactif précipitant;

— le coefficient de solubilité de la combinaison cupferron-métal;

— la limite d'action du réactif sur le métal.

Le schéma suivant résume le protocole suivi :

VÉRIFICATION DE LA PRÉCIPITATION

10 ml. de solution d'ion métallique

+

1 ml. de solution aqueuse de cupferron à 6 p. 100.

(Temps réactionnel variable selon les cas)

FILTRATION

TRAITEMENT DES PRÉCIPITÉS	TRAITEMENT DES LIQUIDES SURNAGEANTS
+	
10 ml. d'eau distillée	+
+	
5 ml. d'eau bromée *ébullition*	5 ml. d'eau bromée *ébullition*
+	
5 ml. d'eau bromée *ébullition*	
Ramener le volume à 10 ml.	Ramener le volume à 5 ml.

Cations à sulfates insolubles	*Cations à sulfates solubles*	*Cations à sulfates insolubles*
identification	acide thioacétique (acide ou alcalin)	+ 1 à 2 ml. d'acide sulfurique au 1/20e
+ 2 à 3 ml. d'acide sulfur. au 1/20e	bain-marie bouil. (30 minutes)	
↓	↓	↓
précipité de sulfate	*précipité de sulfure*	*précipité de sulfate*
Filtration	*Ionisation des sulfures*	Filtration
Calcination	*Réactions spécifiques*	Calcination
Pesée		*Pesée*

Métaux du premier groupe

Dans ce groupe, nous avons étudié l'action du réactif sur le plomb, l'argent et le thallium.

Plomb. — Le précipité obtenu est blanc, dense; la limite de précipitation immédiate est de 250 microgrammes et de 50 microgrammes après vingt-quatre heures. La limite de sensibilité semble être de l'ordre de 25 microgrammes par millilitre. Pinkus et Martin signalent 13 microgrammes.

Le précipité, amorphe au moment de la précipitation, cristallise au bout de quelques heures en aiguilles blanches assemblées en branches de genêt (microphotographie n° 9). Les parois du tube à essai se recouvrent d'une mince pellicule blanche à aspect nacré.

Sensibilité et contrôle de la précipitation. — Nous avons appliqué la méthode pondérale au sulfate insoluble, en opérant sur des quantités importantes de métal.

Comme réaction spécifique, après destruction du cupferron combiné au plomb, nous avons utilisé la formation d'iodure de plomb.

Le métal libéré a été transformé en sulfate; le précipité insoluble a été pesé.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Essais	Plomb mis en expérience (en mg.)	Plomb précipité (en mg.)	Plomb non précipité (en mg.)	Pourcentage moyen des pertes
N° 1	5.000	4.550	450	9,25 %
N° 2	5.000	4.570	430	
N° 3	2.500	2.270	230	10,25 %
N° 4	2.500	2.260	240	
N° 5	1.000	890	110	12,5 %
N° 6	1.000	880	120	

Argent. — Un précipité blanc et très dense apparaît dans le mélange, jusqu'à la concentration de 250 microgrammes par millilitre, dès l'addition du réactif; avec le temps, la réduction du métal s'effectue et la couleur du précipité vire au gris sale. Après vingt-quatre heures de contact, le louche limite est obtenu pour la concentration de 4 microgrammes.

Le précipité observé au microscope, entre lame et lamelle, se présente cristallisé, sans formes régulières, constitué par un mélange de lamelles et d'aiguilles blanches accompagnées de petites étoiles noires de métal réduit.

La limite de solubilité dans l'eau, jusqu'à saturation, est voisine de 165 mcg./ml., selon Pinkus et Martin.

Sensibilité et contrôle de la précipitation. — Nous avons appliqué dans ce cas la méthode chimique de vérification.

L'argent a été caractérisé par la réaction au chromate, puis dosé dans le précipité et le liquide surnageant, sous forme de sulfure.

Il nous est apparu que la précipitation de l'argent est complète. Ce métal n'étant pas d'un grand intérêt pour la toxicologie, nous n'avons pas jugé utile de poursuivre plus avant nos investigations.

Thallium. — L'action précipitante du réactif a été nulle pour ce métal.

Métaux du deuxième groupe

Nous rencontrons dans ce groupe les ions métalliques les plus intéressants pour la toxicologie.

Cuivre. — La précipitation est importante, et encore sensible à moins de 1 microgramme par millilitre. Le précipité est gris-bleu, amorphe pour les doses élevées; on ne note un aspect cristallisé qu'aux concentrations inférieures à 10 mcg./ml. : cristaux miroitant (comparables à ceux d'iodure de plomb donnant la pluie d'or). Cette cristallisation est fugace et fait rapidement place à une floculation

semblable à celle obtenue directement pour les concentrations élevées.

Sensibilité et contrôle de la précipitation. — Nous avons cherché à caractériser le cuivre dans le précipité et le liquide surnageant. Nous avons utilisé la réaction de Montéqui, après action du brome et de la chaleur, puis isolement du métal, sous forme de sulfure.

Cette réaction est encore sensible avec le précipité obtenu à partir de l'échantillon titrant 5 microgrammes de métal par millilitre. Les résultats ont été négatifs dans le liquide surnageant. En milieu neutre, la précipitation est donc totale.

Mercure. — La précipitation est lente, sensible encore à 100 microgrammes après douze heures. La limite de sensibilité est de l'ordre de 50 mcg./ml. : le précipité est blanc-crème, se décantant très lentement; le liquide surnageant est louche aux concentrations élevées; ce louche s'arrête pour une concentration inférieure à 200 mcg./ml.

A l'examen microscopique, le précipité est organisé et se présente sous forme de pompons et d'arborescences, selon les concentrations (microphotographies n^{os} 7 et 8). Après vingt-quatre heures, le précipité cristallisé est encore visible à 75 microgrammes. La limite indiquée par Pinkus, après saturation dans l'eau, est pour cet auteur inférieure à 1 mcg./ml., ce qui ne correspond pas à nos résultats.

Sensibilité et contrôle de la précipitation. — Nous venons de voir que, pour obtenir un précipité bien décanté, il faut attendre de six à douze heures; d'autre part, nous avons signalé qu'avec le temps le réactif instable subit une hydrolyse certaine; des pertes sont donc vraisemblables.

Pour vérifier la nature du métal et la sensibilité de la réaction, nous avons opéré selon la méthode chimique.

Après isolement du sulfure, le métal est caractérisé sous forme de bi-iodure de mercure. Le dosage est pratiqué par comparaison avec une gamme étalon, après action de l'acide thioacétique en milieu chlorhydrique, au bain-marie.

L'expérience montre que la *précipitation n'est pas intégrale en milieu neutre.* Les pertes en métal sont de l'ordre de 1/20e et de 1/10e, selon les concentrations de 500, 250, 100 mcg./ml., ou de 50, 25, 10 et 5 mcg./ml.

Cadmium. — Sa précipitation ressemble à celle du mercure : elle est lente et peu sensible. Après douze heures et vingt-quatre heures, la limite est voisine de 100 mcg./ml. Le précipité est blanc, cristallisé; au microscope, les cristaux sont formés d'aiguilles rassemblées en pinceaux à deux branches opposées (microphotographies nos 1 et 2). La limite est de 20 mcg./ml., pour Pinkus. Il est à noter que, pour les concentrations élevées, les précipités se décantent plus facilement que ceux du mercure, et que les liquides surnageants sont limpides.

Sensibilité et contrôle de la précipitation. — Nous nous sommes servi, comme contrôle d'identité et comme dosage, de la formation de sulfure jaune de cadmium.

Après traitement des produits par la méthode chimique, le métal a été précipité par l'acide thioacétique en milieu acétique. Pour les liquides, la réaction n'est pas franchement positive, même aux fortes concentrations.

Il semble donc que l'on puisse considérer *la précipitation du cadmium par le cupferron comme quantitative,* et que des traces seulement d'élément restent dans le liquide surnageant le précipité.

Arsenic (des arséniates). — La précipitation est absolument nulle avec le réactif au cupferron à 6 p. 100 en milieu aqueux.

Métaux du troisième groupe

Nous avons systématiquement étudié l'action du réactif sur chacun des trois métaux : le fer, le chrome, l'aluminium.

Dans ce paragraphe, nous signalerons nos observations sur le comportement de l'uranium en présence du réactif précipitant.

Fer. — Le cupferron se présente dans toute la littérature comme le réactif spécifique de ce métal; aussi, l'étude de cette précipitation nous a-t-elle retenu assez longuement.

En milieu neutre, l'action du réactif est extrêmement sensible; le précipité rouge-brique, à aspect « rouillé », apparaît immédiatement jusqu'à la concentration de 25 mcg./ml., dès l'addition du réactif. Avec le temps, la floculation augmente; des louches très sensibles sont encore visibles à 1 mcg./ml., et au-dessous.

Les précipités sont amorphes et lourds, se décantent facilement et laissent des liqueurs surnageantes claires.

Comme de nombreux auteurs l'indiquent, le précipité est soluble dans l'éther.

Sensibilité et contrôle de la précipitation. — Nous avons recherché par la méthode habituelle, en la modifiant légèrement toutefois, dans quelle mesure le fer est précipité de ses solutions.

Après destruction de la combinaison fer-cupferron par l'eau bromée et élimination du brome en excès par la chaleur, nous avons jugé inutile de passer par le stade sulfure. La réaction au bleu de Prusse a été directement utilisée comme moyen d'identification et de dosage, comparativement à une gamme étalon.

La précipitation du fer est totale en milieu neutre, même aux fortes concentrations; les liquides surnageants donnent une réaction absolument négative au bleu de Prusse.

Il est nécessaire, pour obtenir ces résultats, de pratiquer une séparation rigoureuse du précipité et du liquide surnageant; il faut opérer sur une liqueur très claire, obtenue au besoin par passages répétés sur le même filtre.

Chrome. — L'action du réactif a été étudiée sur l'ion chrome provenant de l'alun de chrome.

En opérant selon la technique générale, on obtient une précipitation sensible après vingt-quatre heures, à 1 mcg. par millilitre.

La floculation est assez lente aux concentrations élevées,

mais au bout de quelques heures, il se décante un précipité amorphe bleu. Pour les concentrations inférieures à 10 mcg. par millilitre, et jusqu'à la limite de sensibilité, on note seulement un louche décroissant avec la concentration. Il est à remarquer que les précipités sont toujours surmontés d'un liquide trouble, et que ces derniers passent, avec le temps, de la coloration bleue à une teinte rouge sale : il y aurait oxydation secondaire du précipité.

Aluminium. – Nous avons choisi comme sel de ce métal l'alun de potassium.

L'action du réactif intéresse bien l'aluminium; en effet, une solution de sulfate de potassium traitée dans les mêmes conditions ne donne aucune réaction.

Dès l'addition du réactif aux dilutions de la gamme, on obtient un précipité net à 50 mcg./ml., puis un louche qui décroît jusqu'à 1 mcg./ml. Pour les concentrations élevées, les différents précipités se décantent bien et sont amorphes; leur couleur est blanc-crème.

Après vingt-quatre heures, les précipités sont nets à 25 mcg./ml.; les louches s'observent encore au-dessous de 1 mcg., constituant une limite intéressante. Cette dernière propriété a été étudiée par plusieurs auteurs belges [22] qui ont mis au point un dosage diaphanométrique de traces d'aluminium, à l'aide du cupferron.

Uranium. – Nous avons tenu à signaler l'action du réactif sur ce métal, bien que son étude intéresse surtout la chimie analytique ou industrielle, et très peu la toxicologie, en raison des combinaisons cristallisées que nous avons obtenues. Dès l'addition du réactif aux dilutions de la gamme d'expérience, les liquides prennent une teinte jaune décroissant avec l'augmentation des dilutions. Après agitation de quelques minutes, la précipitation débute; le précipité est lourd, jaune d'or. Les solutions s'éclaircissent et se décolorent au fur et à mesure de la floculation. On note ce phénomène au-dessus de 300 mcg./ml.

Vus au microscope, ces cristaux se présentent sous

forme d'étoiles jaunes à trois branches (microphotographie n° 3).

Avec le temps, la précipitation devient plus nette; elle se produit pour 250 mcg./ml. Les cristaux, à cette concentration, sont plus volumineux, mais de même forme. Enfin, après vingt-quatre heures, la limite de précipitation cristallisée est de l'ordre de 100 mcg./ml.; les cristaux sont identiques à ceux des autres concentrations.

Métaux du quatrième groupe

Manganèse. — Nous avons utilisé le sulfate de manganèse. Dès l'addition du réactif, il se forme des microcristaux blancs, légèrement jaunes, qui virent à l'orange après quelques instants; ces cristaux sont lourds. Les solutions, louches au début, s'éclaircissent au fur et à mesure de la précipitation. Celle-ci est lente et s'arrête à des concentrations encore élevées; il faut attendre douze à vingt-quatre heures pour obtenir la cristallisation à 100 mcg./ml. : limite d'action du réactif sur le métal.

Au microscope, les cristaux se présentent sous forme de lamelles quadrangulaires assemblées en bouquets et petits oursins; plusieurs d'entre eux s'assemblent pour former des rosaces (microphotographie n° 10).

Nous reviendrons dans un prochain paragraphe sur cette cristallisation qui a retenu notre attention.

Nickel. — En milieu neutre et dès l'addition du réactif, les différentes solutions de ce métal prennent une légère teinte verte qui diminue d'intensité et passe au jaune très pâle pour les concentrations inférieures à 50 mcg./ml. Ces teintes sont faibles et inadaptables à un dosage colorimétrique.

Nous signalerons ici la précipitation organisée, obtenue par le cupferron sur l'ion nickel, après complexage de ce dernier par l'ammoniaque.

Les solutions ammoniacales de nickel bleues redevien-

nent vertes dès l'addition de 2 ml. de solution de cupferron à 6 p. 100; après agitation le long des parois du tube, et après contact d'une demi-heure, on observe un précipité vert-jaune à 500 mcg./ml. La limite de cette précipitation est de l'ordre de 250 mcg./ml., après vingt-quatre heures.

Cobalt. — L'action du cupferron sur les sels de cobalt se présente sous trois aspects. La précipitation n'a lieu qu'aux très grandes concentrations de l'ordre de 1.000, 750, 500 mcg., sous forme de floculat rouge-cerise apparaissant très lentement. Il faut au moins vingt-quatre heures pour que la précipitation soit effective à 500 mcg.; elle se réduit d'ailleurs à un léger floculat au sein d'un liquide trouble.

Aux concentrations inférieures de nos gammes d'expérience, et dès l'addition du réactif, les solutions prennent une teinte rose écarlate jusqu'à 100 mcg., puis la coloration passe au mordoré et au jaune d'or; mais, même après vingt-quatre heures, on ne note aucune précipitation. Là encore, les teintes trop peu intenses et insuffisamment graduées ne peuvent permettre un dosage colorimétrique.

Zinc. — Pinkus et Martin font état, dans leurs travaux, d'une précipitation de ce métal par le cupferron en milieu neutre et en solutions concentrées; au-dessous de 3.000 mcg. par millilitre, on ne noterait qu'un trouble laiteux s'agglomérant par agitation en masse résineuse. La limite de sensibilité, déterminée d'après la solubilité dans l'eau de la combinaison métal-cupferron, après saturation de ce liquide en zinc, serait voisine de 15 mcg./ml.

Par notre méthode, nous n'avons jamais obtenu ni floculation, ni formation de matière résineuse sur des solutions de concentration inférieure à 1.000 mcg./ml.

Une remarque semblable peut être faite au sujet des limites de sensibilité du cupferron sur le nickel et sur le cobalt; pour les deux auteurs ci-dessus, elles seraient de 26 mcg./ml. pour le nickel, et de 40 mcg./ml. pour le cobalt.

Nous avons vu plus haut qu'on ne peut parler, à vrai dire,

de précipitation pour ces métaux en milieu neutre; que les colorations vertes dues au nickel et roses propres au cobalt sont les seuls faits remarquables dans ces conditions; que, par conséquent, le nickel reste en solution, en présence du réactif, aux concentrations inférieures à 1.000 mcg./ml., et le cobalt au-dessous de 500 mcg./ml.

Les alcalino-terreux

Calcium. — L'action du cupferron sur les sels de ce métal en solutions aqueuses présente surtout un intérêt cristallographique.

Dès l'addition du réactif, on observe un précipité blanc cristallisé en arborescences rassemblées en pompons volumineux, visibles jusqu'à 300 mcg./ml. (microphotographie n° 4).

Avec le temps, la cristallisation augmente, et l'ensemble des cristaux floculе, donnant un précipité blanc surmonté d'un liquide clair. La cristallisation est sensible encore à 250 mcg./ml. Après vingt-quatre heures de contact, la limite d'action est de l'ordre de 200 mcg./ml.

La cristallisation reste inchangée, quelle que soit la concentration du métal.

Baryum. — L'action précipitante du réactif sur le baryum est moins sensible que dans le cas du calcium. Il faut opérer sur de fortes concentrations, de l'ordre de 1.000 mcg. à 800 mcg./ml., pour obtenir une précipitation. Celle-ci s'effectue sous forme de lamelles hexagonales blanches s'imbriquant les unes dans les autres (microphotographie n° 5).

Avec le temps, l'action se poursuit aux concentrations inférieures, mais s'arrête, après vingt-quatre heures, à 500 mcg./ml., en donnant encore des cristaux de même type, mais très peu abondants. Les liquides surnageants sont limpides.

Strontium. — L'action du cupferron permet de séparer ce métal des deux précédents. En effet, la précipitation

s'effectue ici sous forme de très longues aiguilles soyeuses et très fines, visibles dès le mélange, au-dessus de 300 mcg./ml. (microphotographie n° 6).

Avec le temps, la cristallisation augmente et les cristaux de même type se retrouvent encore à 250 mcg./ml., baignant dans un liquide clair. C'est d'ailleurs, après vingt-quatre heures, la limite de sensibilité du réactif sur le strontium.

Ces trois métaux sont intéressants par la cristallisation de leurs combinaisons avec le cupferron. Nous y reviendrons dans le paragraphe suivant consacré à toutes les cristallisations en milieu aqueux.

Le *sodium*, le *potassium*, le *magnésium* et l'*ammonium* ne précipitent pas sous l'effet du cupferron.

LES PRÉCIPITÉS CRISTALLISÉS

Au cours de l'étude sur la précipitation en milieu neutre des sels métalliques, nous avons signalé à diverses reprises la possibilité de microcristallisation du composé obtenu.

Quelques-unes de ces combinaisons cristallisées ont déjà été présentées et décrites par A. Martini [23]; nous en avons repris et étendu l'étude.

Les techniques suivies seront indiquées en détail, ainsi que les résultats obtenus dans chaque cas, en les comparant au besoin à ceux de Martini; enfin, dans la mesure du possible, des microphotographies des combinaisons cristallisées dues au cupferron seront présentées pour chaque métal.

L'expérience a montré que souvent, au lieu d'utiliser comme il est classique, et comme Martini l'indique, la cristallisation directe entre lame et lamelle, il est préférable de laisser effectuer ce phénomène dans le mélange contenu dans le tube à essai, puis, après un temps variable, d'examiner les cristaux décantés entre lame et lamelle. Nous signalerons dans chaque cas la technique qui donne les meilleurs résultats.

Procédé général de cristallisation entre lame et lamelle

Partant de concentrations d'abord élevées en sels métalliques, puis décroissantes, nous avons cherché à obtenir des cristallisations optimums dans le laps de temps le plus bref possible. A cet effet, nous avons mélangé sur des lames une goutte de solution de sel métallique et une quantité de réactif en rapport avec la concentration en métal de la solution. La préparation, recouverte d'une lamelle, a été examinée au microscope, de manière à observer la rapidité de la cristallisation.

Pour une concentration de 1.000 mcg./ml., nous avons mis en présence : I goutte de solution métallique et I goutte de réactif aqueux à 6 p. 100.

Ce mélange donne des résultats très rapides.

Lorsqu'on opère avec la concentration de 500 mcg./ml., les cristallisations n'apparaissent que pour les proportions suivantes : II gouttes de solution métallique et I goutte de réactif aqueux à 6 p. 100.

On obtient, après cinq à dix minutes, selon les cas, une excellente cristallisation qui permet une détermination exacte du métal à l'examen microscopique.

Enfin, pour la concentration de 250 mcg./ml., ce même mode opératoire offre plus de difficultés : un nombre faible de cristaux apparaît; il faut attendre une demi-heure et parfois davantage pour obtenir un résultat satisfaisant; enfin, certains métaux ne donnent plus de composés cristallisés à cette concentration.

COMBINAISONS MICROCRISTALLINES OBTENUES AVEC LE CUPFERRON

A. — Travaux de Martini

Cet auteur décrit les combinaisons obtenues avec le *cuivre*, le *cadmium*, le *baryum*, le *calcium*, le *strontium* et l'*uranium*. Tout en rappelant les résultats de cet auteur,

nous apporterons quelques précisions nouvelles sur la limite et le temps nécessaires aux diverses cristallisations.

Cuivre. — Martini ne signale aucune combinaison cristallisée en milieu neutre. Or, comme indiqué précédemment, aux concentrations égales ou inférieures à 10 mcg./ml., il apparaît un phénomène de miroitement identique à celui que provoquent les cristaux d'iodure de plomb. En examinant au microscope une goutte de ces dilutions, on observe, surtout de 5 mcg. à 1 mcg./ml., de très fines aiguilles jaune d'or, assemblées par deux ou trois, ou isolées. Ce phénomène est fugace à 10 mcg., mais persiste aux concentrations plus basses. Ces micro-cristaux *n'apparaissent pas entre lame et lamelle*, et il n'a pas été possible d'obtenir de microphotographies correctes.

Les micro-cristaux de Martini sont obtenus par action du cupferron sur le cuivre, après *complexage de ce dernier par l'ammoniaque*. On obtient, après frottement des parois du tube à essai, et en présence d'un grand excès de réactif, des étoiles à branches multiples visibles à la concentration de 100 mcg./ml., après vingt-quatre heures.

Ces micro-cristaux *apparaissent également entre lame et lamelle* jusqu'à 150 mcg./ml., après un quart d'heure.

Cadmium. — Les cristaux maclés, blancs, en aiguilles rassemblées en pinceaux à deux branches opposées, s'observent *entre lame et lamelle* immédiatement, jusqu'à 500 mcg. par millilitre, mais à 250 mcg., la cristallisation est pratiquement impossible; elle demande plusieurs heures.

Ces cristaux, identiques à ceux présentés par Martini, sont extrêmement solubles dans l'ammoniaque. Nous avons constaté que l'addition de nouvelles quantités de cupferron provoque, après quelques minutes, une cristallisation différente du métal; il y a apparition, dans le milieu ammoniacal, de fines aiguilles assemblées en oursins moins volumineux toutefois que ceux du calcium (microphotographies n^{os} 1 et 2).

Uranium. — La cristallisation est sensible et aisée à obtenir *entre lame et lamelle,* à la concentration de 250 mcg. par millilitre. A ce taux de dilution, les cristaux orange à deux ou trois branches, identiques à ceux décrits par Martini, apparaissent après un quart d'heure; aux concentrations plus élevées, ils sont immédiats et plus volumineux. Nous n'avons pas jugé nécessaire l'emploi d'alcool indiqué par Martini pour augmenter la qualité de la cristallisation (microphotographie n° 3).

Calcium. — Nous obtenons, dès le mélange des deux solutions *entre lame et lamelle,* des pompons de grande taille pour des concentrations égales ou supérieures à 500 mcg./ml.. A. 250 mcg., cette cristallisation demande plus d'une demi-heure (microphotographie n° 4).

Baryum. — La précipitation de ce métal est très longue et difficile; la limite d'action du réactif est voisine de 500 mcg./ml. Martini propose de vaporiser à douce chaleur une goutte de solution de chlorure de baryum sur la lame, et d'ajouter sur le résidu sec le réactif; on observerait alors la cristallisation sous le microscope. Ce procédé, pour des concentrations égales ou inférieures à 1.000 mcg./ml., ne nous a jamais donné de cristallisation correcte *entre lame et lamelle.* Celle-ci s'obtient, au contraire, dans le milieu réactionnel, en opérant avec des solutions de concentration égale ou supérieure à 800 mcg./ml.

A l'examen microscopique, on retrouve les cristaux de même type que ceux décrits par Martini (microphotographie n° 5).

Ce n'est pas une réaction micro-cristalline sensible du baryum; elle est, en outre, délicate à mettre en œuvre.

Strontium. — On obtient *entre lame et lamelle,* comme dans le tube de la réaction, des aiguilles très longues, soyeuses, parfois assemblées en bouquets dès le mélange des solutions, jusqu'à 500 mcg./ml. A 250 mcg., la cristallisation suit celle du calcium (microphotographie n° 6).

B. — Microcristallisations mises au point personnellement

Plomb. – La cristallisation du plomb est très longue et *impossible entre lame et lamelle.* Elle apparaît au bout de douze heures dans le milieu réactionnel abandonné dans le tube à essai.

Il se forme une pellicule blanc-nacré sur la paroi du tube et un précipité d'aiguilles blanches à sa partie inférieure.

Après décantation du liquide clair surnageant, on prélève, à la pipette Pasteur, une fraction de précipité qu'on observe entre lame et lamelle, au microscope : il est constitué d'aiguilles quadrangulaires blanches disposées en arborescences et en arêtes de poisson (microphotographie n° 9).

Mercure. — On obtient *entre lame et lamelle, instantanément,* pour des concentrations égales ou supérieures à 500 mcg./ml., et après une demi-heure à 250 mcg., des cristaux gris-noir en arborescences ou en pompons. On note, toutefois, de rares arborescences à 250 mcg./ml. (microphotographies n°s 7 et 8).

Manganèse. - Bien que possible, nous ne mentionnerons pas la cristallisation de ce métal *entre lame et lamelle* qui est défectueuse. La cristallisation dans le milieu réactionnel donne d'excellents résultats.

Les cristaux rose-orangé, opaques par transparence, apparaissent après dix minutes, jusqu'à 500 mcg., et après une heure à 250 mcg./ml. Au microscope, ils se présentent sous forme de lames quadrangulaires, isolées ou en rosace; on trouve surtout, à 250 mcg., des faisceaux de ces lames courbées en « S »; souvent, deux de ces faisceaux se maclent pour former une étoile à quatre branches (microphotographie n° 10).

Nickel. — *Après complexage par l'ammoniaque,* nous avons pu noter une précipitation organisée pour ce métal. Aux concentrations égales ou supérieures à 500 mcg./ml., on observe, après addition d'un excès de réactif, et au

bout de quelques minutes, l'apparition de micro-cristaux colorés en jaune-brun. En frottant avec un agitateur les parois du tube, on favorise ce phénomène.

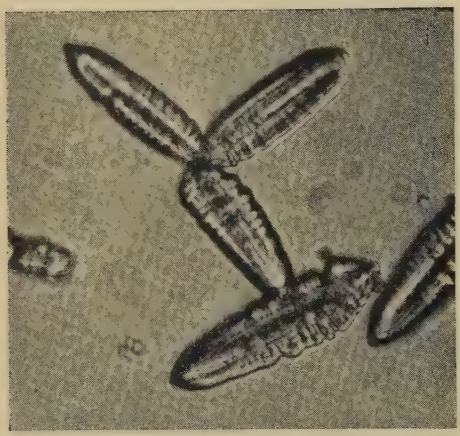
Entre lame et lamelle, cette microcristallisation est possible pour les mêmes concentrations; on voit au microscope des disques opaques rappelant des hématies. Le phénomène s'arrête aux environs de 500 mcg./ml.

MICROPHOTOGRAPHIE N° 1.

Microcristallisation de la combinaison cadmium-cupferron. (Faible grossissement, objectif 4.)

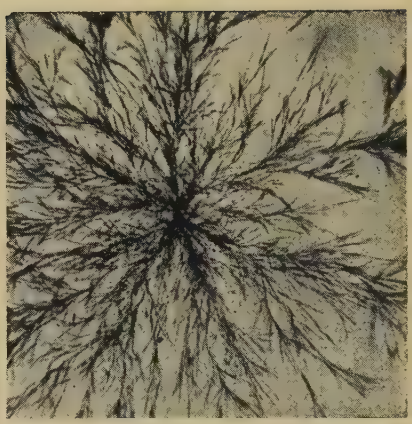
MICROPHOTOGRAPHIE N° 2.

Microcristallisation de la combinaison cadmium-cupferron après complexage. (Faible grossissement, objectif 4.)



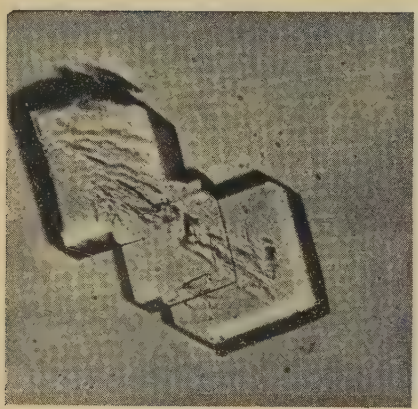
MICROPHOTOGRAPHIE N° 3.

Microcristallisation de la combinaison uranium-cupferron. (Fort grossissement, objectif 1.)



MICROPHOTOGRAPHIE N° 4.

Microcristallisation de la combinaison calcium-cupferron. (Faible grossissement, objectif 1.)



MICROPHOTOGRAPHIE N° 5.

Microcristallisation de la combinaison baryum-cupferron. (Faible grossissement, objectif 1.)

MICROPHOTOGRAPHIE N° 6.

Microcristallisation de la combinaison strontium-cupferron. (Faible grossissement, objectif 1.)

MICROPHOTOGRAPHIE N° 7.

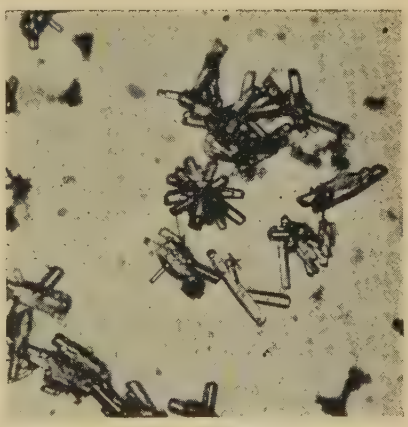
Microcristallisation de la combinaison mercure - cupferron. (Fort grossissement, objectif 4.)

MICROPHOTOGRAPHIE N° 8.

Microcristallisation du mercure (en lumière polarisée) (Fort grossissement, objectif 4.)

MICROPHOTOGRAPHIE N° 9.

Microcristallisation de la combinaison plomb-cupferron. (Faible grossissement, objectif 1.)



MICROPHOTOGRAPHIE N° 10.

Microcristallisation de la combinaison manganèse-cupferron. (Faible grossissement, objectif 4.)

CHAPITRE III

ÉTUDE DE LA PRÉCIPITATION DES IONS MÉTALLIQUES EN MILIEU ACIDE

Nous avons vu, dans l'étude générale du cupferron, que ce composé est facilement altérable par la chaleur et les acides. Or, il est fréquent de rechercher des cations en milieu acide; c'est, en particulier, le cas des liquides de destruction toxicologique. Il convenait, par suite, de déterminer le sort de la précipitation des ions minéraux en milieu acide par le réactif. Dans ce but, nous avons étudié la limite et la sensibilité de cette précipitation, et cherché surtout à déterminer le coefficient de solubilité des composés en fonction de l'acidité et du temps réactionnel.

Dans ce chapitre, objet de ce travail, nous étudierons l'action du cupferron, d'une part, sur les métaux dont les sels sont uniquement solubles dans un milieu acide déterminé : bismuth, étain et antimoine; d'autre part, sur les autres cations déjà étudiés en milieu neutre, mais placés en milieu acide de concentration sulfurique variant de 5 à 20 p. 100 en volume.

LES MÉTAUX A SELS SOLUBLES EN MILIEU MINIMUM CHLORHYDRIQUE

Bismuth. – Le protocole expérimental exposé dans le chapitre précédent a été appliqué sur la solution métallique amenée à l'acidité la plus faible possible, compatible avec

la solubilisation du métal. A partir d'une solution de carbonate de bismuth solubilisé en milieu chlorhydrique, titrée à 1 p. 1.000 en bismuth, nous avons préparé des dilutions semblables à celles déjà étudiées.

On sait que l'eau provoque une hydrolyse des sels de bismuth se manifestant par un louche laiteux; nous avons ajouté la quantité de ClH nécessaire pour faire disparaître ce louche et opérer sur des solutions absolument limpides. Toutes ces expériences ont été confrontées avec des essais à blanc de même acidité, pour vérifier l'action du réactif sur le métal, et éviter de noter comme réaction positive une décomposition du réactif, traduite par la formation d'un floculat.

L'addition, dans chaque tube de la gamme, de 1 ml. de réactif, provoque immédiatement la formation d'un précipité blanc gélatineux, très dense, visible encore à 50 mcg. par millilitre, puis un louche très net à 1 mcg./ml. La solubilité dans l'eau déterminée par Pinkus est voisine de 2 mcg./ml. Ce précipité est amorphe et devient légèrement crème avec le temps. Après vingt-quatre heures, la précipitation semble déjà moins nette : la présence d'acide provoque d'abord l'hydrolyse du réactif en excès, ensuite celle de la combinaison métal-cupferron. Il est, par suite, nécessaire de réduire le temps réactionnel à une heure.

Sensibilité et contrôle de la précipitation. — Nous avons repris la méthode de contrôle habituelle, en poussant la vérification au dosage, dans le but de déterminer la quantité de métal non entraînée par le réactif, en raison de l'acidité du milieu.

Après un temps réactionnel n'excédant pas une demi-heure, le précipité est séparé du liquide surnageant par filtration. Puis, après traitements distincts, à ébullition, par l'eau bromée, du précipité et du liquide surnageant, le bismuth est précipité par l'acide thioacétique en milieu chlorhydrique au bain-marie pendant une demi-heure.

La quantité de sulfure des liquides surnageants est

évaluée par comparaison avec une gamme étalon traitée dans les mêmes conditions.

Pour les concentrations élevées : 500, 250 mcg./ml., on observe dans le filtrat la présence de sulfure de bismuth : la précipitation n'est donc pas totale.

Les solubilités mesurées sont de l'ordre de : 2 mcg./ml. pour la concentration de 500 mcg./ml., et 1 mcg./ml. pour la concentration de 250 mcg./ml.; *la précipitation est de l'ordre de 95 à 97 p. 100.*

Pour les concentrations inférieures: 100, 50, 10 et 5 mcg. par millilitre, *la précipitation est totale.*

Etain^{++}. — Par la méthode de floculation limite, la précipation est très peu sensible : on obtient seulement un précipité colloïdal blanc au-dessus de 500 mcg./ml., et un louche difficilement appréciable à 250 mcg./ml., même après vingt-quatre heures.

A priori, ces résultats semblent concorder avec ceux donnés par Pinkus, pour qui l'étain^{++} ne précipite qu'en solution concentrée et ne donne que des louches laiteux aux concentrations inférieures à 6.000 mcg./ml., mais la limite de précipitation proposée par cet auteur nous apparaît très discutable. En effet, déterminée par la solubilité de la combinaison métal-cupferron dans l'eau jusqu'à saturation de ce liquide en métal, elle est fixée par Pinkus au-dessous de 1 mcg./ml., ce qui signifie qu'à cette dose infinitésimale en étain, le cupferron peut encore agir comme agent précipitant. Or, par la méthode de floculation limite, il a été impossible de déterminer une action quelconque du cupferron au-dessous de 250 mcg./ml. qui constitue pour nous la limite de précipitation après vingt-quatre heures.

Il nous semble, par suite, que le processus expérimental de Pinkus soit défectueux en ce qui concerne ce métal; de plus, la présence d'une acidité, même faible, perturbe l'action du réactif et, de ce fait, la précipitation n'est pas totale.

L'action du réactif sur l'étain^{++}, aux concentrations

étudiées ne nous conduit donc à aucun résultat pratique et intéressant.

Antimoine. — Nous avons utilisé une solution chlorhydrique de trichlorure d'antimoine titrée à 1 p. 1.000 en métal pour préparer les dilutions habituelles, en ayant soin de conserver une acidité chlorhydrique suffisante pour éviter l'hydrolyse.

On obtient immédiatement avec le réactif un précipité dense, visible encore à 25 mcg./ml., puis un louche encore net pour 4 mcg./ml. Les précipités sont jaunes, très pâles et amorphes; les louches floculent très lentement, mais on peut obtenir une séparation facile par simple filtration sur double filtre.

La limite d'action, après vingt-quatre heures, n'est pas facile à déterminer; par suite de l'acidité du milieu, il y a hydrolyse du réactif en excès et de la combinaison métal-cupferron. On peut toutefois l'évaluer aux environs de 4 ou 5 mcg./ml. La solubilité aqueuse de PINKUS est de l'ordre de 2 mcg./ml.

Sensibilité et contrôle de la réaction. — L'étude de l'action du cupferron sur l'antimoine est intéressante à plusieurs titres : elle permet de séparer ce métal de l'arsenic qui ne donne aucune combinaison avec le réactif; elle est aussi susceptible d'apporter à la toxicologie un nouveau moyen de le rechercher et de le doser dans un liquide de destruction.

Pour ces diverses raisons, l'étude de la vérification et de la sensibilité de la précipitation a été poussée davantage. Nous avons cherché à déterminer le coefficient de non précipitation de l'antimoine dans des conditions bien définies.

Après un contact n'excédant pas une demi-heure, les contenus de six tubes de concentrations différentes ont été filtrés sur double filtre jusqu'à l'obtention de filtrats clairs; les précipités et les liquides surnageants ont été traités par la méthode chimique de vérification.

L'identification du métal est obtenue par formation de sulfure orangé d'antimoine qui s'observe à la fois dans les tubes « précipités » et « liquides surnageants ».

La précipitation n'est donc pas totale.

Pour apporter des résultats plus précis, un dosage du sulfure des liquides surnageants a été tenté par comparaison avec une gamme étalon : il se heurte à des difficultés de lecture provenant de la précipitation concomitante de soufre colloïdal. Nous avons dû, par suite, faire appel à la technique de Pluchon.

Pour les concentrations élevées : 500, 250 mcg./ml., les quantités d'antimoine non précipitées sont de l'ordre du 1/20e et du 1/50e de la prise d'essai : *la précipitation est de 95 p. 100 environ.*

Pour les concentrations de 100 et 50 mcg./ml., on ne retrouve que des traces infimes de sulfure ne donnant qu'un louche très faible au Pluchon : *la précipitation est pratiquement totale.*

Enfin, pour les concentrations de 25, 10 et 5 mcg./ml., les réactions de dosage sont négatives : *la précipitation est totale.*

L'action du cupferron sur l'antimoine en solution chlorhydrique se révèle pleine d'intérêt; la précipitation suit d'assez près celle du bismuth pour les concentrations inférieures à 100 mcg./ml. A ces doses, elle peut être envisagée comme intégrale, mais au-dessus les pertes sont trop importantes pour conduire à un dosage correct d'un métal aussi toxique.

Précipitation des ions métalliques en milieu sulfurique, a l'aide de la solution aqueuse de cupferron a 6 p. 100

Seuls les milieux acides très dilués sont compatibles avec le cupferron et n'entraînent pas sa décomposition rapide. Or, en toxicologie, la plupart des métaux toxiques qui font l'objet des recherches se trouvent en liqueur acide, que

cette dernière provienne de la méthode de destruction nitro-sulfurique de DENIGÈS, de la méthode de KAHANE ou de celle au chlore.

Nous nous sommes placé expérimentalement à des conditions identiques à celles rencontrées dans ces liquides de destruction, et nous avons étudié l'action du réactif dans des milieux sulfuriques de concentration variable.

Comme dans le paragraphe précédent, on étudiera, dans ces nouvelles conditions, l'action du réactif au cupferron, la sensibilité de précipitation et, enfin, le coefficient de précipitation des différents cations.

Protocole expérimental. — Comme en milieu neutre, les dilutions habituelles de sels métalliques ont été obtenues à partir de solutions titrées à 1 p. 1.000 en métal. La solubilité a été déterminée expérimentalement par la méthode des dilutions ultimes, c'est-à-dire par la mise en évidence de la plus grande dilution donnant un précipité visible avec le réactif. Cette technique peut se schématiser ainsi : à 10 ml. des différentes dilutions, acidifiées expérimentalement par l'acide sulfurique pur, de façon à obtenir des concentrations en acide égales à 5, 10 et 20 p. 100 en volume, on ajoute 1 ml. de solution fraîche de cupferron à 6 p. 100; un tube « témoin » complète la gamme.

La précipitation a été seulement essayée pour les métaux donnant en milieu neutre une réaction positive, sensible aux concentrations étudiées. La durée de contact du réactif et de la solution acide métallique, très courte, n'a jamais excédé une demi-heure, afin d'éliminer toute décomposition possible propre au réactif. Les deux phases, « précipité » et « liquide surnageant », sont séparées par simple filtration au bout de ce temps.

Sensibilité et contrôle de la précipitation. — La décantation du précipité est moins aisée qu'en milieu neutre : les liquides surnageants sont souvent louches; il faut opérer par fractionnement, quatre à cinq filtrations successives pour obtenir une bonne séparation et des liquides clairs.

On vérifie l'action spécifique du réactif et la sensibilité de la précipitation par les méthodes déjà indiquées. Seule, d'ailleurs, la méthode chimique est utilisée; en raison de l'acidité sulfurique du milieu, plusieurs métaux à sulfates insolubles ne peuvent être étudiés dans ce chapitre.

Métaux du premier groupe

Dans ce groupe, le plomb donne un sulfate insoluble; le thallium ne précipite pas dans ces conditions; reste seule l'étude de l'argent : aux concentrations étudiées, le sulfate d'argent est soluble.

Argent. — En milieu sulfurique à 5 p. 100 et 10 p. 100, le précipité est identique à celui obtenu en milieu neutre : blanc, virant au gris, par réduction du métal, *mais toujours amorphe*. La limite de sensibilité est de l'ordre de 4 mcg. par millilitre, comme en milieu neutre.

La précipitation est très partielle : plus de la moitié de l'argent reste en solution et passe dans la liqueur surnageante à la filtration, quelle que soit la concentration envisagée.

Pour Pinkus, la solubilité de l'argent est totale dans ce milieu acide; Biltz et Hödtze, Fresenius, Weber et Ferrari indiquent que l'argent est précipité par le cupferron, après neutralisation complète de l'acide par le réactif lui-même et mise en liberté de nitrosophénylhydroxylamine.

Nous avons toujours identifié l'argent dans la combinaison insoluble; cependant, le cupferron ne se trouvait pas en excès dans l'expérience correspondant à l'acidité sulfurique de 10 p. 100, et à aucun moment le milieu n'a cessé d'être acide.

L'étude de ce métal n'offre pas grand intérêt pour la toxicologie ou la chimie analytique qui possèdent des moyens plus précis de dosage; aussi, n'avons nous pas poussé plus avant cette étude.

Métaux du deuxième groupe

Dans ce groupe, nous avons envisagé la précipitation en milieu sulfurique du cuivre, du bismuth et de l'antimoine, en raison du caractère toxique de ces trois éléments.

Cuivre. — On obtient un précipité gris-bleu et un louche encore visible au-dessous de 2 mcg./ml. (comme en milieu neutre). Pinkus et Martin signalent bien ce précipité, mais donnent comme limite extrême 3 à 4 mcg./ml.

Sensibilité et contrôle de la précipitation. — La méthode habituelle de vérification fournit un précipité de sulfure de cuivre abondant et brun-noir pour les tubes « précipités », et un louche jaune-brun pour ceux « liquides surnageants ». Ces derniers nous ont servi à vérifier la sensibilité de la précipitation et à étudier l'influence de l'acidité du milieu sur la réaction.

Dans ce but, la transformation en sulfure de cuivre ne permet pas un dosage pratique. Nous avons dû faire appel à une réaction spécifique du métal, pouvant fournir un dosage précis par comparaison avec une gamme étalon; la réaction de Montéqui, sensible encore à une dose de 1 mcg. de cuivre par millilitre, a été retenue après divers essais.

Dans un premier temps, le sulfure de cuivre constituant le louche des « liquides surnageants » est ionisé par l'acide nitrique à l'ébullition; la solution obtenue est ajustée à 10 millilitres avec de l'eau distillée; le milieu, trop acide, est additionné de lessive de soude jusqu'à faible acidité au papier de tournesol.

D'autre part, on constitue une gamme de faibles concentrations en métal : 10, 5, 2,5 et 1 microgrammes de cuivre par millilitre.

Le cuivre est précipité à l'état de micro-cristaux violets de Montéqui dans ces diverses liqueurs, selon le processus suivant : à 3 ml. de solution, on ajoute III gouttes de réactif au zinc et V gouttes de réactif au mercure; après forte

agitation, on obtient un dépôt de micro-cristaux plus ou moins dense et coloré en raison de sa concentration en cuivre. Il suffit de comparer le tube renfermant la solution dont on veut déterminer la teneur en cuivre à ceux de la gamme étalon.

La précipitation du cuivre en milieu acide n'est pas totale.

Le tableau suivant indique les pertes en métal pour des acidités de 5 p. 100 et 10 p. 100 en acide sulfurique.

Concentration en métal (en mcg./ml.)	Cuivre retrouvé dans les liquides surnageants		Taux de non précipitation	
	Acidité sulfurique		Acidité sulfurique	
	5 p. 100	10 p. 100	5 p. 100	10 p. 100
500	10 mcg./ml.	20 mcg./ml.	2 p. 100	4 p. 100
250	5 —	10 —	2 —	4 —
100	5 —	10 —	5 —	10 —
50	2,5 —	5 —	5 —	10 —
10	2,5 —	5 —	20 —	50 —
5	1 —	2 —	20 —	50 —

De ces résultats on peut tirer les conclusions suivantes : dès que le milieu devient acide, la précipitation n'est plus totale; *les pertes en métal doublent lorsque la concentration en acide passe de 5 p. 100 à 10 p. 100.* Il faut remarquer que celles-ci sont plus importantes pour les fortes dilutions que pour les concentrations élevées. Enfin, on n'observe plus en milieu acide le phénomène de miroitement signalé en milieu neutre pour les concentrations en métal inférieures à 10 mcg./ml.

Bismuth. — Bien que les solutions bismuthiques ne soient possibles qu'en milieu acide dilué, nous avons voulu déter-

miner l'influence d'une acidité sulfurique surajoutée sur la combinaison cupferron-bismuth.

A chaque dilution de la gamme, nous avons ajouté une quantité de lessive de soude suffisante pour neutraliser, au papier de tournesol, l'acidité du milieu. Dès l'affusion de soude, l'hydrolyse du bismuth est instantanée. Pour obtenir le milieu sulfurique expérimental, il suffit d'ajouter la quantité de cet acide correspondant au titre désiré : 5 p. 100 ou 10 p. 100. Dès cet apport d'acide, l'hydroxyde de bismuth disparaît, et les liqueurs redeviennent claires et limpides.

Dès l'addition du réactif, la précipitation est immédiate jusqu'à la limite de 50 mcg./ml.; les louches restent très visibles à 1 mcg./ml., comme pour la solution au minimum d'acidité. Les précipités restent amorphes et blanc-crème, mais la décantation est toujours beaucoup plus difficile à obtenir.

Sensibilité et contrôle de la précipitation. — Nous avons procédé exactement comme pour le milieu chlorhydrique. La vérification, opérée sur des liquides surnageants provenant des précipitations à 5 p. 100 et 10 p. 100 en acidité sulfurique, nous a conduit aux résultats suivants :

Pour les concentrations élevées de l'ordre de 500, 250 et 100 mcg./ml., on ne retrouve que des traces peu importantes de métal; *le pourcentage de perte est de l'ordre de 2 p. 100 à 5 p. 100.*

Pour les très grandes dilutions, aux concentrations inférieures à 50 mcg./ml., jusqu'à la limite d'action du réactif, *le pourcentage de perte est de l'ordre de 1 p. 100.*

A la lumière de ces résultats, on peut considérer que le bismuth précipite en milieu sulfurique comme en solution au minimum chlorhydrique, que la sensibilité du métal au réactif demeure : en effet, une acidité normalement incompatible au cupferron, n'empêche pas une précipitation des plus correctes et n'entraîne que de faibles pertes en bismuth.

Antimoine. — Le problème de l'antimoine est du même

ordre que celui du bismuth, et a été traité selon le même protocole.

Aux diverses solutions, convenablement acidifiées, on ajoute le réactif comme en milieu chlorhydrique; la précipitation est de même type qu'en milieu neutre, et la limite d'action reste voisine de 4 ou 5 mcg./ml. Les précipités sont amorphes et la séparation des deux phases reste toujours délicate à obtenir : il faut opérer plusieurs filtrations pour avoir des résultats convenables.

Sensibilité et contrôle de la précipitation. — Le traitement des précipités et des liqueurs surnageantes est le même que pour le milieu chlorhydrique.

Les acidités sulfuriques à 5 p. 100 et 10 p. 100 n'apportent que de légères modifications aux résultats obtenus pour le milieu dit neutre.

Pour les concentrations de 500, 250 et 100 mcg./ml., le pourcentage de perte est de 5 p. 100.

Pour les concentrations inférieures à 50 mcg./ml., on retrouve des traces de métal non précipité; *le pourcentage de perte est voisin de 1 p. 100 à 2 p. 100.*

Les conclusions sont sensiblement les mêmes que pour l'acidité minimum chlorhydrique : la précipitation est intéressante pour des concentrations égales ou inférieures à 50 mcg./ml., mais, au-dessus, les pertes sont trop importantes eu égard surtout à la toxicité du métal étudié.

L'ensemble de la précipitation suit d'assez près celle du bismuth.

Le mercure, le cadmium, l'étain et l'arsenic ne précipitent pas dans les conditions expérimentales exposées. Il est à remarquer que les métaux qui précipitent lentement en milieu neutre en fournissant des composés cristallisés, tels cadmium et mercure, ne les donnent plus par suite de l'acidité du milieu. Ce fait ne se produit pas uniquement en milieu sulfurique : il se renouvelle en présence de tout autre acide.

Métaux du troisième groupe

Aluminium. — Etant donné la sensibilité de la réaction en milieu neutre, il convenait de s'assurer de l'influence de l'acidité sulfurique sur la réaction. Le floculat produit est difficile à séparer correctement de son liquide surnageant. La limite est la même qu'en milieu neutre : 1 mcg. par millilitre. Les précipités sont amorphes et les louches moins nets.

Sensibilité et contrôle de la réaction. — Nous avons appliqué la méthode de vérification, mais le passage au sulfure demande une technique spéciale : en effet, l'aluminium n'est précipité de ses solutions par l'acide thioacétique qu'en milieu alcalin, et la limite de cette action est voisine de 10 mcg./ml. Après traitement des liquides surnageants et des précipités par la chaleur et l'eau bromée, la liqueur est neutralisée, puis alcalinisée à la soude en présence de papier de tournesol, avant de faire agir le réactif sulfurant. Après passage au bain-marie, le précipité blanc aluminique se dépose au fond des tubes.

L'étude des liquides surnageants permet de constater, par comparaison à une gamme étalon, que, pour une acidité sulfurique de 5 p. 100, la plus grande partie de l'aluminium n'est pas précipitée et se retrouve dans le filtrat.

La précipitation n'est que très partielle; le pourcentage de pertes, à toutes les concentrations, *est de l'ordre de 70 à 80 p. 100.*

La précipitation de l'aluminium en milieu sulfurique par le cupferron est trop insuffisante pour pouvoir être retenue.

Fer. — L'étude de la précipitation du fer par le cupferron en milieu sulfurique de concentrations diverses a retenu notre attention assez longuement. C'est en effet l'étude de cette action qui nous a permis d'observer certains phénomènes intéressants pour la précipitation des ions métalliques. En outre, au point de vue pratique, la présence du fer dans un liquide de destruction est toujours une gêne

pour la recherche des ions toxiques; ces observations conduisent à vérifier s'il est possible de passer du domaine expérimental au domaine pratique en « déferrisant » les liquides de destruction par ce réactif.

Nous avons envisagé divers milieux de concentrations différentes en acide sulfurique et étudié l'influence du temps sur la qualité de la précipitation. Les expériences ont été pratiquées sur des solutions à 1 p. 100, 2 p. 100, 5 p. 100, 10 p. 100, 20 p. 100 et 50 p. 100 d'acidité sulfurique.

Comme pour le milieu neutre, la précipitation du fer est encore sensible à 1 mcg./ml., les précipités et les louches étant du même type.

Sensibilité et contrôle des précipitations aux différentes concentrations en acide sulfurique. — Il convenait de rechercher le fer non entraîné par le cupferron et présent dans les liquides surnageants. Après séparation aisée des deux phases par simple filtration, nous avons appliqué une technique un peu différente de l'habituelle : après action de la chaleur et de l'eau bromée, les solutions obtenues ont été filtrées, puis neutralisées à la soude en présence de papier de tournesol; enfin, après légère acidification par l'acide sulfurique et addition de ferrocyanure de potassium, la présence ou l'absence de métal dans les liquides surnageants était vérifiée par la formation ou la non production de bleu de Prusse.

L'ensemble des résultats est rassemblé dans le tableau ci-contre.

D'après ces résultats, la destruction du cupferron est fonction du temps et de l'acidité du milieu; le fer repasse en solution à mesure qu'elle se poursuit, ce qui explique la réaction positive au bleu de Prusse.

La solution aqueuse de réactif à 6 p. 100 doit toujours être utilisée de préférence au réactif cristallisé en nature. Ce dernier, essayé comparativement, se dissout trop lentement dans le milieu acide et se décompose en donnant des produits inactifs sur le fer. La précipitation de ce métal

dans ces conditions ne dépasse jamais 20 à 25 p. 100 des quantités mises en œuvre.

Acidité du milieu	Temps de contact	Concentration en métal (en mcg./ml.)	Présence de métal dans le liquide surnageant	Réaction au bleu de Prusse
1 p. 100 et 2 p. 100	2 heures	de 500 à 5	Négative	0
	4 —	500 à 100	Positive	+ +
	4 —	100 à 5	Négative	0
	12 —	500 à 250	Très positive	+ + +
	12 —	100 à 50	Positive	+ +
	12 —	10 à 5	Négative	0
5 p. 100 et 10 p. 100	15 minutes	500 à 5	Négative	0
	30 —	500 à 100	Positive	+ +
	30 —	100 à 5	Négative	0
	6 heures	500 à 250	Très positive	+ + +
	6 —	100 à 50	Positive	+ +
	6 —	10 à 5	Négative	0
	12 —	500 à 5	Très positive	+ + +
20 p. 100	5 minutes	500 à 5	Négative	0
	15 —	500 à 250	Positive	+ +
	15 —	100 à 5	Traces de fer	+
	6 et 12 heures	500 à 5	Très positive	+ + +
50 p. 100	Dès l'addition du réactif	500 à 5	Hydrolyse totale, tout le fer est dans le liquide surnageant.	+ + +

Enfin, après un temps réactionnel n'excédant pas dix minutes, on constate que la totalité du fer est précipitée à toutes concentrations pour une acidité égale ou inférieure à 20 p. 100 en acide sulfurique.

Cette précipitation peut donc faciliter, en toxicologie, la suppression de la majeure partie de l'élément « fer » des liquides de destruction.

Comme les auteurs allemands l'affirment, en liqueur acide, le *chrome* n'est pas précipité par le cupferron; en milieu sulfurique, devenant un oxydant énergique, il décompose entièrement ce composé en donnant une suite de corps de plus en plus oxydés (voir p. 7).

Métaux du quatrième groupe

Le *manganèse*, le *nickel*, le *cobalt*, le *zinc* et l'*uranium* ne précipitent pas dans ces conditions.

Alcalins et alcalino-terreux

De même, aucune action n'est à signaler pour le *potassium*, le *sodium*, le *magnésium* et l'*ammonium*.

La précipitation des alcalino-terreux ne peut se concevoir en milieu sulfurique.

CHAPITRE IV

ESSAI D'APPLICATION TOXICOLOGIQUE

Quelles conséquences, au point de vue toxicologique, pouvons-nous retirer de cette étude ?

Nous avons résumé dans les tableaux I et II (voir pp. 46 et 47), et dans le graphique correspondant (voir p. 48), l'ensemble des résultats que nous avons obtenus.

OBSERVATIONS

A. — En milieu neutre

Le graphique montre que les cations usuels peuvent être classés, quant à leur aptitude réactionnelle vis-à-vis du cupferron, en trois groupes :

a) *Ceux ne précipitant pas :* Tl, As (sous forme d'As_2O_3 ou As_2O_5), Zn, Ni;

b) *Ceux qui précipitent avec une excellente sensibilité,* très souvent pour des concentrations inférieures à 1 mg. par litre : Fe, Cu, Al, Bi, Cr, Ag, Sb;

c) *Ceux dont la précipitation est peu sensible ou non intégrale :* Pb, Hg, Cd, Ur, Mn, Ca, Sr, Sn, Ba, Co.

Seuls les métaux du groupe « b » seront donc intéressants, à priori, au point de vue toxicologique. Parmi ceux-ci, il faut citer essentiellement : Bi, Sb, Cu et Cr. L'argent et l'aluminium n'ont pratiquement aucun intérêt. Quant au fer, on devra toujours en tenir compte, puisqu'il est un élément normal de tout liquide de destruction.

TABLEAU I

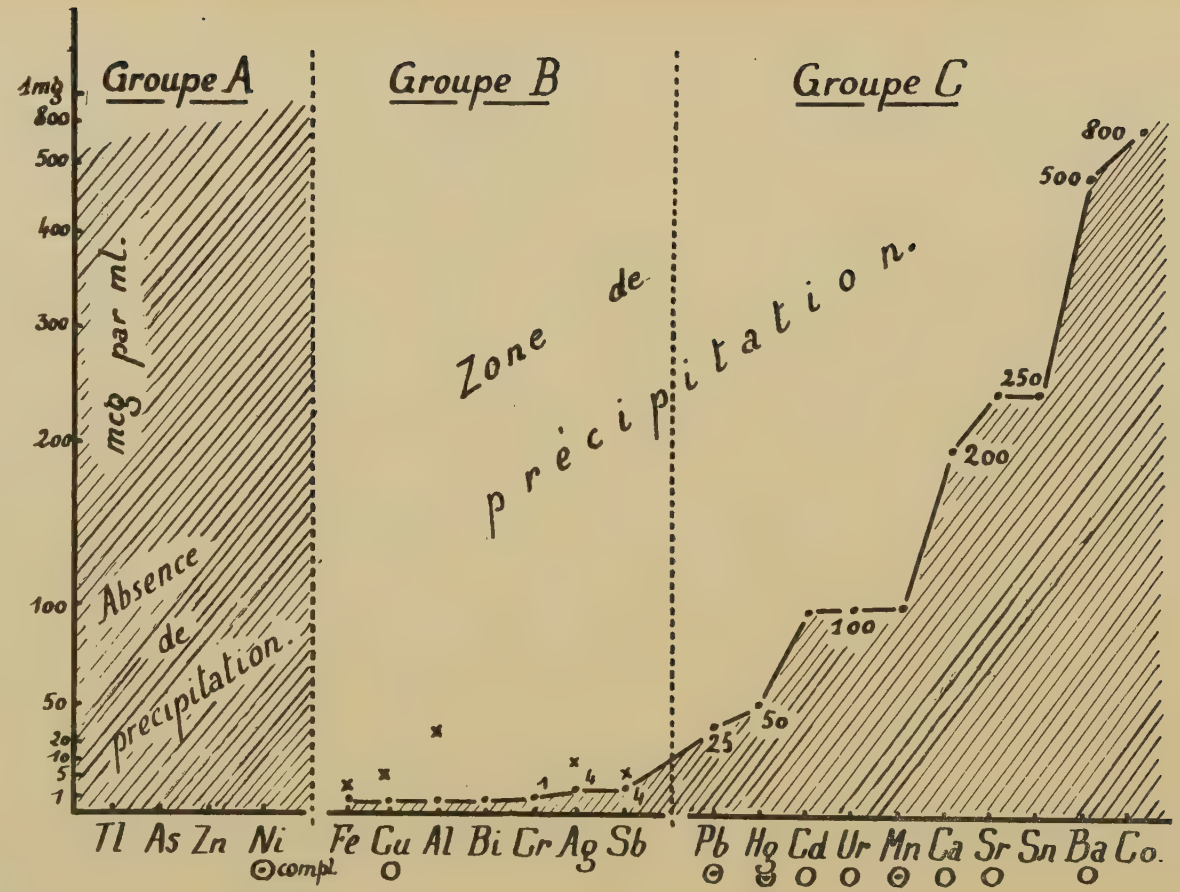
TABLEAU RÉCAPITULATIF DES PRÉCIPITATIONS PAR LE CUPFERRON, PAR LA MÉTHODE DE FLOCULATION LIMITE.

MÉTAUX	PRÉCIPITATION EN MILIEU NEUTRE (en mcg./ml.)	COULEUR DU PRÉCIPITÉ	PRÉCIPITATION EN MILIEU SULFURIQUE
Pb	+ ≦ 25	Blanc	0
Ag	+ ≦ 4	Blanc	Incomplète
Hg^{++}	+ ≦ 50 incomplète	Gris-blanc	0
Cu	+ ≦ 1	Gris-bleu	Incomplète
Cd	+ ≦ 100	Blanc	0
Tl	0	0	0
Sn^{++}	+ ≦ 250	Blanc colloïdal	0
As	0	0	0
Bi	+ < 1	Blanc	Presque complète
Sb	+ < 4	Blanc-crème	Presque complète
Fe^{+++}	+ < 1	Rouge-brique	Presque complète
Cr^{+++}	+ ≦ 1	Bleu	0
Al	+ < 1	Blanc	Très incomplète
Ur	+ ≦ 100	Jaune	0
Zn	0	0	0
Ni	Coloration verte	0	0
Co	+ ≦ 800 Col. au-dessous.	Rose	0
Mn^{++}	+ ≦ 100	Orange	0
Ba	+ ≦ 500	Blanc	0
Ca	+ ≦ 200	Blanc	0
Sr	+ ≦ 250	Blanc	0
Alcalins	0	0	0

TABLEAU II

LIMITE DE PRÉCIPITATION DES CATIONS MÉTALLIQUES EN MILIEU NEUTRE PAR LE RÉACTIF AQUEUX AU CUPFERRON.

MÉTAUX	RÉSULTATS PERSONNELS (en mcg./ml.)	RÉSULTATS DE PINKUS ET MARTIN (en mcg./ml.)	CRISTALLISATION
Pb	25	13	+
Ag	4	164	Peu nette
Hg^{++}	50	< 1	+
Cu	1	< 1	0
Cd	100	20	+
Sn^{++}	250	< 1	0
Bi	< 1	2	0
Sb	< 4	2	0
Fe^{+++}	< 1	< 1	0
Al	< 1	< 1	0
Cr^{+++}	1	0	0
Ur	100	0	+
Zn	0	16	0
Ni	0	26	0
Co	800	40	0
Mn^{++}	100	0	+
Ca	200	0	+
Ba	500	0	+
Sr	250	0	+



O : microcristaux de Martini. — ⊙ : microcristaux personnels. — × : précipitation en milieu sulfurique.

B. — En milieu acide

Dans les conditions d'acidité du liquide de destruction nitro-sulfurique de Denigès, l'expérience nous a montré que la précipitation du fer, du bismuth et de l'antimoine n'est pas perturbée quantitativement; celle du cuivre l'est très légèrement; celle de l'argent et de l'aluminium, dans des proportions plus importantes.

Conséquences

a) Le cupferron, de ce fait, paraît particulièrement adapté au diagnostic toxicologique du cuivre, du bismuth et de l'antimoine, en laissant de côté le chrome, peu fréquent.

La technique suivante est proposée : amener, par addition de lessive de soude, le liquide de destruction nitro-sulfurique au minimum d'acidité compatible avec la solubilité du phosphate de chaux (il convient d'éviter toute précipitation). Ajouter une quantité suffisante de solution aqueuse de cupferron à 6 p. 100. Attendre au maximum un quart d'heure pour éviter la formation de phénylhydroxylamine insoluble.

Centrifuger. Détruire le cupferron précipité sous forme de combinaison métallique, ainsi que la phénylhydroxylamine par l'eau bromée en excès, au bain-marie. Evaporer à sec et reprendre par 2 à 3 ml. d'eau.

Cuivre. — Alcaliniser par l'ammoniaque une partie de la liqueur, centrifuger; le fer, le bismuth et l'antimoine insolubilisés se trouvent dans le culot.

Identifier le cuivre dans le liquide coloré en bleu par le cupferron, au moyen de ses réactions microchimiques propres et le doser, s'il y a lieu, par une méthode chimique classique ou par néphélométrie en présence de cupferron.

Antimoine. — Recherche et dosage par le réactif de Vignoli-Fauchon sur le liquide lui-même. *L'arsenic n'inter-*

férera jamais avec lui. Seul le bismuth peut gêner, mais la discrimination, s'il y a lieu, peut être effectuée par la méthode de CASTAGNOU-DAVID [24].

Bismuth. — On applique directement au liquide neutre et aqueux une des réactions classiques du bismuth : réaction de LÉGER, d'AUBRY, etc., ou réduction par le réactif hypophosphoreux-phosphorique (CASTAGNOU-DAVID).

Chrome. — Le liquide sera traité par la méthode de BRIARD, et le dosage aura lieu selon les conditions édictées par cet auteur.

b) Considérons maintenant le groupe « c », c'est-à-dire celui dont la précipitation par le cupferron est loin d'être totale, soit par solubilisation partielle du composé formé, soit par dissociation de la combinaison.

Nous pouvons ranger ici les cations réagissant en plusieurs sous-groupes, en fonction de la systématique classique :

Pb, Hg, Cd, Sn précipitent par H_2S en milieu chlorhydrique (*).

Ur, Mn, Co précipitent par $S(NH_4)_2$ en milieu ammoniacal.

Ba, Sr, Ca ne précipitent pas dans ces conditions; ils ne présentent aucun intérêt en ce qui concerne l'étude de la phase aqueuse d'un liquide de destruction sulfonitrique.

Le cupferron peut servir aisément à l'identification des groupes des cations toxiques, en opérant comme suit :

Au liquide de destruction amené au minimum d'acidité, comme dans le cas précédent, ajouter une quantité suffisante de solution de cupferron.

Les métaux étudiés dans le paragraphe « a » précipitent et sont recueillis comme il a été indiqué. *Le fer sera complètement éliminé* et ne viendra plus souiller aucun des précipités.

(*) Le plomb ne sera pas retenu, puisque dans le liquide de destruction il est déjà insolubilisé sous forme de sulfate. Quant au cadmium, la micro-cristallisation devra être effectuée dans les conditions que nous avons déjà exposées.

Alcaliniser par l'ammoniaque; puis revenir en milieu chlorhydrique, jusqu'à obtention d'un liquide clair.

Passer à H_2S : Hg, Sn et Cd précipitent. Recueillir le précipité par centrifugation, en présence d'un adsorbant inerte (kaolin).

Alcaliniser le centrifugat par de l'ammoniaque et ajouter $S(NH_4)_2$. On obtiendra, tant sous forme de sulfures que de phosphates insolubles, *Ur, Mn, Co, Ca.* Recueillir ce nouveau précipité par centrifugation avec un adsorbant.

Traiter chacun des précipités par l'eau bromée; évaporer à sec et reprendre par le minimum d'eau distillée : on doit obtenir une solution limpide après addition, si besoin, d'un minimum de ClH.

Sur une goutte de cette solution, effectuer une étude micro-chimique de cristallisation, soit entre lame et lamelle, soit dans un tube. Tous ces cations, sauf l'étain et le cobalt, sans grand intérêt toxicologique, donnent des micro-cristaux spécifiques.

En raison de la très forte concentration ionique ainsi réalisée à partir du liquide sulfonitrique et atteignant aisément un ordre cent fois supérieur à la teneur primitive, le cupferron peut donc, à l'aide d'une technique très simple, servir à la diagnose de cations toxiques présents seulement à l'état de traces.

En résumé, nous pouvons dire que la technique étudiée et mise au point, permet d'utiliser le cupferron sur un liquide de destruction sulfonitrique, pour :

— 1° Le déferriser directement en l'absence des toxiques du groupe « a »;

— 2° Détecter et doser avec précision les cations toxiques suivants : Cu, Bi, Cr, Sb, ce dernier en toute certitude, puisque l'arsenic ne peut venir perturber la réaction;

— 3° Identifier : Hg, Cd, Ur, Mn, avec une très acceptable précision.

CONCLUSIONS

Nous avons essayé d'appliquer le cupferron à la diagnose d'un cation toxique dans un liquide de destruction nitro-sulfurique. Pour cela, dans un premier temps, nous avons étudié, par la méthode des dilutions ultimes, l'action de ce réactif sur des solutions de cations métalliques en milieu neutre.

Dans le cas d'une précipitation, nous avons défini quantitativement la fraction insolubilisée de chacun des métaux intéressés. Citons, par exemple, le plomb, dont l'insolubilisation est de l'ordre de 75 à 80 p. 100; l'antimoine, le bismuth et l'aluminium, pour lesquels elle atteint 95 à 98 p. 100; enfin, mentionnons le fer et le cuivre, dont l'insolubilisation est classique.

Nous avons ainsi divisé les cations étudiés en trois groupes :

a) Ceux ne précipitant pas dans les limites des concentrations étudiées : thallium, arsenic, zinc, nickel;

b) Ceux précipitant avec une remarquable sensibilité : fer, cuivre, aluminium, bismuth, antimoine, chrome et argent;

c) Ceux, enfin, dont la précipitation ne s'effectue qu'à des concentrations toxicologiquement importantes, en donnant des équilibres avec la phase précipitée.

L'étude en milieu acide a montré que les métaux précipitant mal en milieu neutre ne précipitent plus; au contraire, pour la plupart de ceux qui précipitent convenablement, la solubilité de leur combinaison avec le cupferron n'est que fort peu altérée, à l'exception de l'aluminium

qui se solubilise à 70 et 80 p. 100 dans les conditions définies.

En fonction de ces résultats, nous considerons qu'il est possible d'appliquer le cupferron à la diagnose rapide et directe, sur un liquide de destruction, des toxiques courants suivants : cuivre, bismuth, antimoine, souillés, il est vrai, de fer. Sur ce bloc recueilli, l'identification de chacun d'eux est aisée.

Pour le groupe « c », au contraire, l'emploi direct du cupferron sur le liquide de destruction ne peut donner de résultats que pour des concentrations toxicologiques élevées. La technique a cependant été appliquée sur les résidus ionisés des sulfures obtenus à partir du liquide de destruction, déjà traité lui-même par le cupferron. Ce traitement préalable présente l'avantage de *déferriser rigoureusement* ce liquide.

Sur la solution neutre et aqueuse ainsi obtenue, l'étude micro-chimique permet d'identifier en quelques instants le ou les métaux en cause.

Nous avons en effet étudié dans chaque cas de précipitation avec le réactif, l'aspect micro-cristallin de la combinaison obtenue; certaines de ces combinaisons avaient été signalées par MARTINI, mais nous avons précisé cette technique et l'avons étendue au plomb, mercure, manganèse et cuivre, et à certains métaux complexés, tel le cadmium et même le nickel, qui ne réagit pas en milieu neutre.

Vu :
Pour le Doyen :
L'Assesseur,
R. SIGALAS.

Vu, bon à imprimer :
Le Président,
R. CASTAGNOU.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 5 Mai 1952.
Le Recteur,
E. DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

1. Cattelain. — *Journ. Pharm. Chim.*, 1925, **2**, 528.
2. Baudish (O.). — *Chem. Zeitung*, 1901, **33**, 1298.
3. Biltz & Hödtke. — *Zeitschr. anorg. Chem.*, 1910, **66**, 426.
4. Cattelain. — *Journ. Pharm. Chim.*, 1925, **2**, 528.
5. Slotta (K.) & Jacobi (K.). — *Zeitung Anal. Chem.*, 1930, **80**, 97.
6. Kasanof (R.). — *Soc. Industr. eng. chem.*, 1920, **12**, n° 8, 799.
7. Guilhem-Ducléon. — Le titane. La réaction colorée titane-acide ascorbique. Thèse Pharm., Bordeaux, 1942, p. 17.
8. Von Bergkampf. — *Zeitung Anal. Chem.*, 1931, **83**, 345.
9. Lundell & Knowles. — *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1920, **42**, 1439-1449; *Journ. Industr. eng. Chem.*, 1920, **12**, 344-350.
10. Thornton. — *Ann. Journ. Sc.*, 1914, **4**, 37-407.
11. Auger. — *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **1**, 995.
12. Rabbits. — *Canada min. Journ.*, 1949, **70**, n° 10, 84-86.
13. Angeletti. — *Gaz. chim. Ital.*, 1923, **53**, n° 5, 339-341.
14. Grisallet (H.) & Servigne (M.). — *Ann. Chim. Anal.*, 1930, **12**, 321.
15. Pinkus & Dernies. — *Bull. Soc. Chim. Belgique*, 1927, **37**, n° 7, 267-283.
16. Le Roy & Mac Clay (W.). — *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1909, **31**, 377-381.
    Kling (A.) & Lassieur (A.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **1**, 1221.
17. Turner (W. A.). — *Chem. news.*, 1916, **144**, 261.
18. Pinkus & Martin. — *Journ. Chim. phys.*, 1917, **24**, 83-127.
19. Pinkus & Martin. — Emploi du cupferron en gravimétrie. *Chim. Ind.*, 1927, **17**, 182.
20. Denigès. — Précis de chimie analytique, **1**, 68-69. Maloine, édit., Paris, 1930.
21. Zizine (J.). — Micro-détection des cations à l'aide des réactifs réducteurs et sulfurants. Thèse Pharm., Bordeaux, 1951, 3-4.
22. Bronkèse (M^lle^ L. de) & Belche (E.). — *Bull. Soc. Chim. Belgique*, 1927, **36**.
23. Martini (A.). — *Michrochem.*, 1928, **6**, 152 et suivantes.
    Martini (A.). — *An. Assoc. Quim. Argentina*, 1928, **16**, n^os^ 84-85, 117-124.
24. Castagnou (R.), Cazaux (P.) & David (P.). — Caractérisation et dosage du bismuth par un réactif hypophosphoreux. *Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1949, **87**, 72.

Bordeaux. — Imprimerie E. Drouillard, place de la Victoire, 3